

⑫ 公表特許公報(A)

平1-500592

⑬ 公表 平成1年(1989)3月1日

⑮ Int. Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	審査請求有	予備審査請求	未請求	部門(区分)	3(2)
A 61 K 37/54	ACB	8615-4C					
A 01 N 1/02		7215-4H					
A 61 K 31/765	ACC	7431-4C※					

(全 17 頁)

⑯ 発明の名称 繊維素溶解性合成物

⑰ 特 願 昭62-503333

⑱ 出 願 昭62(1987)5月8日

⑲ 翻訳文提出日 昭63(1988)1月16日

⑳ 国際出 願 PCT/US87/01067

㉑ 国際公開番号 WO87/06836

㉒ 国際公開日 昭62(1987)11月19日

優先権主張 ㉓ 1986年5月15日 ㉔ 米国(US) ㉕ 863,582

⑳ 発 明 者 ハンター、ロバート・エル

アメリカ合衆国 30084 ジョージア州 タツカ チャーチウエル
コート 3640

㉑ 出 願 人 エモリ ユニバーシティ

アメリカ合衆国 30322 ジョージア州 アトランタ サウス オ
ックスフォード ロード 1380

㉒ 代 理 人 弁理士 三好 保男 外1名

㉓ 指 定 国 AT(広域特許), AU, BB, BE(広域特許), BG, BJ(広域特許), BR, CF(広域特許), CG(広域特許), CH(広域特許), CM(広域特許), DE(広域特許), DK, FI, FR(広域特許), GA(広域特許), GB(広域特許), HU, IT(広域特許), JP, KP, KR, LK, LU(広域特許), MC, MG, ML(広域特許), MR(広域特許), MW, NL(広域特許), NO, RO, SD, SE(広域特許), SN(広域特許), SU, TD(広域特許), TG(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. 繊維素溶解性酵素と界面活性コポリマーとからなり、前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



a は整数であって $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって $(C_3H_5O)_b$ で表される親水性部分が合成物の約 50~90 重量%をなすように選択される、改良繊維素溶解性合成物。

2. 前記繊維素溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとアロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第1項に記載の改良繊維素溶解性合成物。

3. さらに酸素基捕捉剤を含む、請求の範囲第1項に記載の改良繊維素溶解性合成物。

4. 前記酸素基捕捉剤が、スーパーオキシド不均化酵素とマンニトールとからなるグループから選択される、請求の範囲第3項に記載の改良繊維素溶解性合成物。

5. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



疎水性物質 $(C_3H_5O)_b$ の分子量が約 1750 であって、

前記合成物の総分子量が約 8400 である、請求の範囲第1項に記載の改良繊維素溶解性合成物。

6. 前記繊維素溶解性酵素と前記界面活性コポリマーとが溶液中にある、請求の範囲第1項に記載の改良繊維素溶解性合成物。

7. 繊維素溶解性合成物を含有する溶液を人体に注入する段階を備え、前記合成物が、有効量の繊維素溶解性酵素を含有する溶液と次の式を有する有効量の界面活性コポリマーとからなり、



a は整数であって $(C_3H_5O)_b$ で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって $(C_2H_4O)_a$ で表される親水性部分が前記合成物の約 50~90 重量%をなすように選択される、血管内の血栓を溶解する方法。

8. 前記繊維素溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとアロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第7項に記載の方法。

9. さらに酸素基捕捉剤を含む、請求の範囲第7項に記載の方法。

10. 前記酸素基捕捉剤が、スーパーオキシド不均化酵素とマンニトールとからなるグループから選択される、請求の範囲第9項に記載の方法。

11. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



疎水性物質 ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) の分子量が約 1750 であって、前記合成物の総分子量が約 8400 である、請求の範囲第7項に記載の方法。

12. 前記繊維素溶解性合成物がさらに抗凝固物質を含む、請求の範囲第7項に記載の方法。

13. 前記繊維素溶解性合成物がバルーン血管再建術に関連して使用される、請求の範囲第7項に記載の方法。

14. (a) 次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを人体に注入し、



a は整数であって ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) で表される親水性部分が合成物の約 50~90 重量%をなすように選択され、

(b) 次に、実効濃度の繊維素溶解性酵素を含有する

950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) で表される親水性部分が合成物の約 50~90 重量%をなすように選択され、

(b) 次に、実効濃度の繊維素溶解性酵素を含有する溶液を前記人体に注入する、血管内の血栓を溶解する方法。

20. 人体に繊維素溶解性合成物を含有する溶液を注入する段階を備え、前記合成物が、実効量の繊維素溶解性酵素と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



a は整数であって ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) で表される親水性部分が前記合成物の約 50~90 重量%をなすように選択される、腫瘍から繊維素を除去する方法。

21. 腫瘍を有する人体に、次の式を有する実効量の界面活性コポリマーを含有する溶液を注入する段階を備え、



a は整数であって ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4

溶液を前記人体に注入し、

(c) 次に、実効濃度の前記界面活性コポリマーを前記人体に注入する、血管内の血栓を溶解する方法。

15. 実効濃度の繊維素溶解性酵素を含有する前記溶液が、さらに実効量の前記界面活性コポリマーを含有する、請求の範囲第14項に記載の方法。

16. 前記繊維素溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとプロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第14項に記載の方法。

17. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



疎水性物質 ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) の分子量が約 1750 であって、前記合成物の総分子量が約 8400 である、請求の範囲第14項に記載の方法。

18. 前記各段階 a, b, c における溶液が抗凝固物質を含む、請求の範囲第14項に記載の方法。

19. (a) 次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを人体に注入し、



a は整数であって ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) で表される疎水性物質が約

000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) で表される親水性部分が前記合成物の約 50~90 重量%をなすように選択される、腫瘍の血液の流れと酸素添加とを向上させる方法。

22. 前記人体に化学療法剤を注入する段階をさらに備える、請求の範囲第21項に記載の方法。

23. 腫瘍を検出するための診断試薬を前記人体に注入する段階をさらに備える、請求の範囲第21項に記載の方法。

24. 前記診断試薬が、前記腫瘍に対して特異的である、放射性標識を付けたモノクローナル抗体である、請求の範囲第23項に記載の方法。

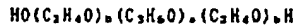
25. 繊維素溶解性合成物を含有する溶液を人体に注入する段階を備え、前記合成物が、実効濃度の繊維素溶解性酵素と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



a は整数であって ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) で表される疎水性物質が約 950~4000 の分子量、好ましくは約 1750~4000 の分子量を有するように選択され、b は整数であって ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) で表される親水性部分が前記合成物の約 50~90 重量%をなすように選択される、腫瘍血液質

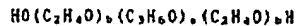
血症を治療する方法。

26. 次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを含有する溶液を人体に注入する段階を備え、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が前配合物の約50~90重量%をなすように選択される、冠状赤血球質血症を治療する方法。

27. 次の式を有する実効量の界面活性コポリマーを含有する溶液を人体に注入する段階を備え、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が前配合物の約50~90重量%をなすように選択される、アテローム性動脈硬化に伴う血栓の再発を防止する方法。

28. バルーン血管再建術を施す段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記バルーン血管再建術後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

33. 前記血液がコロイド状溶液で希釈される、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

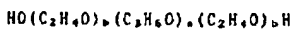
34. 前記血液が塩溶液で希釈される、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

35. 前記抗凝固物質がヘパリンである、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

36. 前記灌流される臓器が心臓である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

37. 前記灌流される臓器が腎臓である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

38. 血液と抗凝固物質と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなる溶液で臓器を灌流する段階を備え、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される、生体外臓器の保存方法。

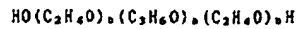
29. 動脈内腔切除術を施す段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記動脈内腔切除術後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

30. カテーテルを血管内に挿入する段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記カテーテル挿入後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

31. 血液と、

実効量の抗凝固物質を含有する溶液と、

次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される、組織および臓器を灌流するための生体外組織灌流合成物。

32. 前記血液が全血である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

39. 前記血液が全血である、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

40. 前記血液がコロイド状溶液で希釈される、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

41. 前記血液が塩溶液で希釈される、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

42. 前記抗凝固物質がヘパリンである、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

43. 前記臓器が人体への移植用に保存される、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

44. 前記灌流される臓器が心臓である、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

45. 前記灌流される臓器が腎臓である、請求の範囲第38項に記載の臓器保存方法。

明細書

発明の名称

繊維素溶解性合成物

関連出願との相互参照

本出願は、1986年5月15日の出願第06-863,582号の継続出願である1987年4月29日の出願の一部継続出願である。

技術分野

本発明は、繊維素血餅および血栓を溶解するとともに、虚血組織の循環を回復し維持する方法および合成物に関する。特に本発明は、ある種のエチレン酸化物-プロピレン酸化物の凝縮生成物である界面活性コポリマーと繊維素溶解性酵素との組合せに関する。

発明の背景

「繊維素溶解性酵素」とは繊維素を切断する能力のある全ての酵素を意味し、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、細胞培養から生成される組織プラスミノゲン活性化物質(トPA)、組換えDNA技術によって生成される組織プラスミノゲン活性化物質(rトPA)、およびアロウロキナーゼによって生成される組織プラスミノゲン活性化物質(kトPA)を含むが、これらに限定されるものではない。「等張液」または「等浸透液」

基質では、繊維素は余り顕著でない。また繊維素は、各種細胞の間にも見つかる。場合によっては、上皮間繊維素堆積が腫瘍壊死領域に伴う。しかしながら、腫瘍壊死領域は、必ずしも繊維素堆積の発生箇所ではない。肉腫における繊維素堆積は、癌腫における繊維素に比べ研究がおろそかであった。リンパ腫においては、繊維素堆積は、各悪性腫瘍細胞間および隣接する見かけ上の反応性良性リンパ系要素間に観察できる。繊維素は、ホジキン病におけるように、腫瘍硬化症の領域内に発現することが報告されている。ある研究は、繊維素堆積のパターンと範囲とが、与えられた腫瘍について特徴的であることを示している。(J.B. Lippincott社のR.W. Colman等編集による「止血および血栓症、基本原理と臨床実践」の「悪性腫瘍における止血の異常」第1145-1157ページ参照。)

血管から腫瘍への均一な供給が不足すると、診断および治療効果が妨げられる。例えば、低酸素腫瘍は、多くの薬剤や照射の作用をほとんど受け付けない。従来の薬剤やモノクロナル抗体結合剤などの新しい薬剤は、それらが腫瘍細胞に送られなければ効果がない。ある種の腫瘍を取り囲む繊維素堆積は、腫瘍への薬剤の浸透を妨げる。腫瘍への血液供給は、他の因子によっても阻害される。腫瘍内の血管は、小さく曲りくねっていることが多い。このような血管の流体力学的抵抗は、腫瘍への血液の流れをさらに妨げる。

同様の状態が、鎌状赤血球貧血の急性発症中に、様々な

とは、血栓と同一または同様の浸透圧を有する溶液を意味する。血餅、繊維素血餅、および血栓の諸は、各々交換可能に使用される。

毎年、約550,000人のアメリカ人が心臓発作で死亡している。それよりも多い約700,000人が心臓発作に襲われながら生存している。心臓発作に襲われた人が生き長らえても、その人の心臓の一部は確実に死ぬことが多い。心臓の死は心筋梗塞と呼ばれ、その70-90%は冠動脈血栓による。血栓または血餅は、心臓の動脈の一つを閉塞させ、その周囲の筋肉への血液の流れを阻害する。これによりその筋肉から酸素や他の栄養素が奪われる。これまで、この過程を逆転させることはできなかった。集中治療病院における高度技術装置は、患者の心臓の一部が死んでも、その患者が生存できるような援助してきた。

他の多くの組織においても、これら組織への血液の供給が血栓や血栓によって影響を受けると、前記と同様の状態が発生する。脳卒中、深静脈血栓、および肺血栓などがその例である。

繊維素原や繊維素が影響する他の領域として、腫瘍がある。繊維素原系の蛋白質が固形腫瘍に集まるという確かな証拠がある。腫瘍における繊維素の解剖学的分布は、腫瘍のタイプによって異なる。癌腫においては、繊維素は腫瘍基質内および腫瘍巣を中心として堆積し、特に腫瘍周辺および腫瘍宿主界面に堆積する。これと逆に、硬化コラーゲン堆積を特徴とするより古くより中心の腫瘍

な原因で発生する。鎌状赤血球細胞は、小血管を部分的に閉塞し、局所的な低酸素症や酸性症を発生させる。このため、赤血球細胞はさらに凝状になる。この結果「急性発症」と呼ばれる悪循環となる。この治療としては、患部領域への血液の流れを増加させるとともに酸素添加を行うことが含まれる。他の治療では、カルシウムチャンネル遮断薬の組合せが含まれる。繊維素の形成は、鎌状赤血球急性発症を複雑にすることが多い。

ある種の酵素は、繊維素堆積に作用し、閉塞した動脈を開かせることが発見されている。これまで有効に使用されてきた酵素としては、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、アロウロキナーゼ、細胞培養により生成される組織プラスミノゲン活性化物質、および組換えDNA技術によって生成される組織プラスミノゲン活性化物質などがある。これら酵素が最も効果があるのは、血管の閉塞の直後に、心臓組織が回復不能に損傷される前に投与される場合である。静脈内または冠動脈内ストレプトキナーゼで治療した11,806人の患者の調査では、生存率の18%の上昇が認められた。その治療を心臓発作の最初の痛みの開始から1時間以内に始めた場合、病院内死亡率は47%も減少した。(1986年2月22日「ランセット(Lancet)」第8478巻、第397-401ページ参照)。血栓の早期の溶解は、本来であれば死んでしまう心臓組織部分を救うことが認められた。血管造影法を使用して血管の閉塞性を評価する調査では、組織プラスミノゲン活性化物質は、129人の患者の

61%の血管を完全に開通させた。この対照例として、酵素で治療しなかった場合は29%であった。(Verstraete等による「ランセット」1985年11月2日、第8462巻、第965~969ページ参照)。組織プラスミノゲン活性化物質は、溶液1リットル当たり約100 μ lのTween 80を添加し、酵素の拡散を促進させる必要がある。(Kowinger等による「血栓、止血」(シュトゥットガルト)第46(2)巻、第561~565ページ(1981年)参照)。

血管内の血栓を溶解するために使用される酵素は、纖維素溶解を活性化することによって血栓の溶解を行う。纖維素は、纖維素原の重合によって生成される蛋白質である。この纖維素は、血栓を保持するゲルを形成する。纖維素分子は血栓を形成し、徐々に架橋されてさらに安定な血栓を作る。アロウキナーゼ、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、および組織プラスミノゲン活性化物質の四つの酵素は、全て纖維素に対して同様の作用を及ぼす。しかしながら、それらは異なる毒性を有する。纖維素溶解機構が血栓の近辺で活性化されると、その血栓は溶解する。しかし血液循環の全体を通して組織的に活性化されると、人体の出血を止める能力を著しく低下させる。ストレプトキナーゼとウロキナーゼとは、組織的な纖維素溶解を活性化する傾向にある。このためそれ等は、患部の血管に直接注入する場合に最も有効であった。組織プラスミノゲン活性化物質は、それに反し、実際に纖維素に付着した場合にのみ有効となる。つまり

その活動は、血栓そのものの領域に局所的であり、組織的な纖維素溶解を発生させない。血栓溶解率を高めようとして、または不応性血栓を溶解しようとして、低用量を増やすと組織的纖維素溶解の量と出血の危険性とが増大する。この物質は、大循環中に静脈内注射することができ、無害に循環し、血栓中の纖維素に接触し、活性化してその血栓を溶解する。組織プラスミノゲン活性化物質は、極めて架橋されている血栓を溶かすことができる。つまり、数時間にわたり存在している血栓を溶解することが可能である。また組織プラスミノゲン活性化物質は、他の酵素に比べて出血の危険が少ない。さらに効果的な酵素系血栓溶解物質も開発されている。

新しい酵素治療法の特徴的なことは、それらが極めて複雑であり、すべての患者に有効ではないことである。左冠動脈の下行分岐における血栓は、他の動脈における血栓よりも極めて容易に溶解する。酵素が血液の流れによって血栓に直接送られなければ、その酵素は何の効果も及ぼさない。様々な理由により、左下行冠動脈における血栓の周囲には、他の大動脈の血栓におけるよりも多くの血液が流れる。さらに、大動脈における血液の流れの阻害に応じて形成される副行循環の存在は、閉塞された大動脈の再開通率に悪影響を与える。多くの副行血管が存在すると、血液は血栓をバイパスすることが可能となり、血栓を横断する圧力勾配を減少させると考えられる。このため、その血栓に生き残っているであろう小さな開口を通る血液の流れが減少し、その血栓への酵素

の搬送が阻止され、血栓の溶解が妨げられる。

血栓の溶解後も、血栓を形成した因子は存続する。これは、その血栓の溶解後数時間または数日において、再び血栓や梗塞を引き起こす可能性が高い。再血栓症は、初期の処置で血栓を溶解することに成功した事例の3~30%で報告されている。新しい血栓の形成を防止するため、抗凝固物質が現在使用されているが、それらは出血を引き起こす傾向がある。血管の再血栓を防止するために必要な抗凝固物質の量と、重大な出血を引き起こす量との間には微妙なバランスがある。

回復不能障害が発生してからでは、血栓溶解の効果は少ない。回復不能の障害は、その血管によって血液が供給されている組織の心筋または血管床の障害である。この新しい酵素治療法は広く実施されているが、その大きな問題は、患者の疾病の初期においてその疾病を特定し治療する方法を見つけること、および血栓の開始後、できるだけ長時間有効な治療法を見つけることである。

冠動脈血栓に伴う血液の流れおよび死んだ組織を制御する事実は、動物実験により良く理解されるようになった。心臓は根本的な血管を有しており、その筋肉は1本以上の血管から血液を受け取っている。このため、冠動脈血栓に伴う組織の変化は、別個の領域に分割される。組織の中心領域は、ほぼ壊死状態となる。これを著しい虚血の領域が取り囲む。この領域の外圍は、境界領域と呼ばれる浅い壊死の領域である。最後に、この全領域を取り囲む危険領域がある。ここによる実験によれば、中

心壊死領域は、数時間後の血管再開通によっても影響を受けなかった。しかしながら、虚血期間中において障害の少なかった他の領域の筋肉は、救われる可能性があった。驚くべき発見としては、血栓を溶解して完全な動脈造影を作っても、動物の大多数においては、正常な流れを回復するには不十分だったことである。(1985年、Flaeng等の「J. Clin. Invest」第75巻、第84~90ページ参照)。

閉塞された時間中に、その血管から供給を受ける領域には、血液の流れに対するさらに別の障害が発生した。別の実験において、血管の障害を取り除いた直後では、損傷組織を通過する流量が多いことが分かった。しかしながら、短時間のうちに、その虚血領域を通過する血液の流れは減少し、その組織は死んだ。つまり、再開通直後の局所的な血液の流れは、心筋組織を救助する上で悪い前触れとなる。損傷組織を通過する血液の流れをほぼ通常レベルに維持すれば、組織救出の成功の可能性は大きい。出血は、小血管の損傷を反映する著しい虚血領域にのみ発生した。しかしその出血は、著しい虚血組織に限られており、梗塞の拡張や他の重大な合併症を引き起こさなかった。再開通後において小血管を通過する血液の流れを血栓の主要領域から隔てておく治療法は、心筋組織の救助を著しく上昇させると思われる。

血栓の溶解後に発生する心筋細胞の損傷は、虚血および他の因子によるものである。新鮮な血液が損傷したまたは死んだ細胞と接触すると、肝中球または脾細胞の流

入を引き起こし、回復し得る心臓細胞を殺してしまう。好中球によって引き起こされる障害の多くは、スーパーオキシドイオンによるものであった。スーパーオキシドアニオンは、種々の方法で組織を損傷し得る。スーパーオキシドアニオンと過酸化水素との相互作用は、ヒドロキシル基を発生させ、これが毒性を有する可能性があり、ほとんどの有機分子と急速に反応する。マンニトールは、ヒドロキシル基の選択捕捉剤である。酵素すなわちスーパーオキシド不均化酵素は、スーパーオキシドアニオンの分解を引き起こす。スーパーオキシド不均化酵素、自由基捕捉剤、または好中球上の流入を阻止する物質などの酵素は、心臓細胞の救助を向上できる。

コポリマーの濃度が低いと、血漿蛋白質に対する効果が低い。濃度が臨界ミセル濃度よりも高いと、代替通路を介して補体が活性化される。これにより、心臓発作を治療する上でさらに別の利益が提供される。これは補体の体組織活性化が、好中球を補体定着性に不応答にさせ、それらの心臓組織への移動を阻止する。

血液の流れの回復後および損傷組織の救助後も、持続療法が必要とされる。元的心臓発作の原因となった動脈硬化は残る。米国及び欧州の研究者は、動脈硬化が血栓溶解療法によって血栓を溶解した患者の70~80%において動脈を狭めていることを発見した。多くの医師は、長期の利益のためこの障害を閉塞させなければならないと信じている。バルーン血管再建術は、小バルーンを有するカテーテルを狭まった動脈に挿入する方法である。

れたものである。エチレン酸化物とプロピレン酸化物とのコポリマーを使用することは、重大な冠動脈硬化に悩まれた患者の血餅にはほとんど効果を有さない。これら患者に形成された血餅は、大きくしかも安定な血餅である。安定血餅は、繊維素原から形成された繊維素が架橋されている血餅である。架橋が進行している繊維素は、エチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーの存在の影響を受けない。このコポリマーは、繊維素がまだ新しく架橋されていない、新しい血餅にのみ効果を有する。

このため、必要となる合成物は、血餅を溶解する能力を有するとともに、最初の血餅が無くなった後に再形成される第2の血餅を防止しなければならない。理想的には、この合成物は、組織への血液の供給の遮断によって生ずるすべての障害を可能な限り少なくし、患者が血餅の再形成に起因するいかなる障害も受けないようにすることが望ましい。また、このような合成物は、固形腫瘍から血餅を除去し、曲りくねった通路を介しての流れを向上させ、これによって治療薬を腫瘍に運ぶことを可能にする。

発明の要約

本発明に基づき提供される合成物は、血餅を溶解し、閉塞した冠動脈や他の血管を介する血液の流れを回復し維持することにおいて有効である。本発明の繊維素溶解性合成物は、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、プロウロキナーゼ、組織プラスミノゲン活性化物質などの

このバルーンを膨張させ、アテローム性動脈硬化を血管壁に対して押し付け、その動脈を膨張させる。この方法の有効性は、バルーンによって発生される虚血、遠位の血管に存在するアテローム性物質の毒性、および該バルーンによって損傷された領域における即座のまたは遅延した血栓の発生傾向などによって制限される。このバルーンは、血栓形成の原因となる下層のコラーゲンや脂質物質を暴露している組織を切断する。この血栓は、即座に血管を塞ぐか、数日後または数週間後に閉塞を引き起こす一連の事象を作る。必要なことは、膨張した血管の表面が血栓原となることを少なくし、末梢組織を通る血液の流れを向上させ、閉塞した物質をさらに小さな断片に砕き、それらが閉塞障害を引き起こさないようにすることである。

アテローム性動脈硬化の壁面の脂質物質は、アラークの塊を作る。このアラークは動脈の内腔を狭め、血栓原となり易い表面を作る。アテローム性動脈硬化アラークから脂質を抽出するか被覆する方法が必要であり、この方法はそれら表面を血栓原とならぬように保ち、その塊を減少するものである。

エチレン酸化物およびプロピレン酸化物の重合によって作られるコポリマーを使用して、血栓や血栓を治療することは既に説明されている(米国特許第3,641,240号参照)。しかしその効果は、新しく形成された小さな(微小であることが好ましい)血栓および血栓に限られており、これらは主として血小板によって構成さ

降素、または他の繊維素溶解性酵素、および界面活性コポリマーからなる。この界面活性コポリマーは、エチレン酸化物-プロピレン酸化物の重合生成物であって次の一般式を有することができる。



ここで、aは整数であって (C_2H_4O) で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~3500の分子量を有するように選択され、bは整数であって (C_3H_4O) で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。

本発明の繊維素溶解性合成物は、通常、患者への静脈内注射によって投与される。

本発明の提供する合成物は、血管を閉塞している血餅を有する患者に投与できる。本発明に基づく繊維素溶解性酵素と界面活性コポリマーとの組合せは、血餅の周囲の血液の流れを増加させ、血餅を迅速に溶解する。さらに、新しい血餅の形成を防止し再循環障害を減少させることにより患者を保護する。

本発明の他の実施例は、表面活性コポリマーと、スーパーオキシド不均化酵素およびマンニトールなどの酸素基捕捉剤との組合せである。本発明は、界面活性コポリマー、血餅溶解酵素、および自由基捕捉剤の組合せを含み、さらに界面活性コポリマーと自由基捕捉剤だけとの組合せも含む。

本発明の繊維素溶解性合成物は、従来の治療法に比べ、患者を極めて安定させるもので、バルーン血管再建術など

侵入性の処置の適用を遅らせることができ、これによって侵入性の治療の条件を患者の都合の良いうように選択することができる。

本発明のさらに他の実施例は、界面活性コポリマーの鎌状赤血球貧血症の治療への適用である。本発明のさらに別の実施例は、界面活性コポリマーによって移植用臓器を保存することである。

従って、本発明の目的は、纖維素溶解性酵素と界面活性コポリマーとの組合せを提供して血餅を溶解する上で相乗作用を発生させることである。この組合せは、標準量の酵素を使用して血餅の溶解速度を高めるように、または少ない量の酵素を使用して副作用を抑えながら血餅の溶解効果を維持するように調合することができる。

本発明の他の目的は、心臓治療における抗凝固の必要性を減少することによって、出血の危険を減少させる合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、凝集した血小板を解放することにより、および別の血小板がその血餅に凝集することを阻止することによって、血餅の溶解を促進するような合成物を提供することである。

本発明の別の目的は、血餅を溶解するために必要な纖維素溶解性酵素の投与量を減少させることができ、それによって合併症の事故を減少させるような合成物を提供することである。

本発明の別の目的は、界面活性コポリマーと、自由基またはスーパーオキシド不均化酵素またはマンニトール

を提供することである。

本発明の他の目的は、血栓から遠位の血管における血小板の集約を阻止することによって組織損傷の拡大を制限するような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、心筋細胞または他の細胞の拡張性の壊死の組織内および周囲における血液の流れを増加させることにより、別の心筋組織の壊死を遅らせるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、損傷組織への好中球の侵入を減少させることにより、好中球の毒性生成物によって引き起こされる損傷範囲を減少させるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、血栓による血液の流れの閉塞に起因する虚血の量を減少させるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、血栓溶解性酵素、バルーン血管再建術または他の手術法、および界面活性コポリマーを組み合わせることにより、血栓または血栓性閉塞を除去するための改良方法を提供し、再血栓症を促進する障害条件を減少させることである。

本発明の他の目的は、鎌状赤血球貧血症における急性発症を治療するための方法と合成物とを提供することである。

本発明の前記およびその他目的、特徴および利点は、以下の開示実施例の説明および請求の範囲において明らかにする。

などの酸素捕捉剤とを含有する合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、虚血によって損傷した組織の微小血管通路を通る血液の流れを促進するとともに、壊死進行組織の量を減少させるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、纖維素溶解性酵素での治療後の再血栓の危険を著しく減少させるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、アテローム性動脈硬化症の血管壁からの脂質の除去を促進することにより、再血栓症の危険を減少するような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、腫瘍に伴う纖維素堆積を溶解できるような纖維素溶解性合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、腫瘍内や鎌状赤血球貧血症の急性発症の場合に発生する曲りくわった通路を通る血液の流れを増加させるような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、臓器の生体外保存のための方法と改良合成物とを提供することである。

本発明の他の目的は、再血栓症の危険を減少させることにより、閉塞血管の治療用のバルーン血管再建術や他の侵入性の処置の実施を遅延させ得るような合成物を提供することである。

本発明の他の目的は、尿管構造の内皮細胞を損傷するバルーン血管再建術など侵入性の処置の直後または一定期間後における血栓症の危険を減少させるような合成物

開示実施例の詳細説明

本発明の提供する合成物は、血餅を溶解する上で相乗作用を提供し、閉塞した冠動脈や他の血管を通る血液の流れを回復し維持する。本発明の纖維素溶解性合成物は、実効濃度の纖維素溶解性酵素と、実効濃度の界面活性コポリマーとを含有する溶液である。これら二つの成分の組合せは、血管を閉塞している血餅を溶解する上で有効である。さらに、本発明の纖維素溶解性合成物は、血餅の再形成を防止する上で極めて有効であり、その血管および閉塞血管組織を通過する血液の流れを維持する上で有効である。

本発明の纖維素溶解性合成物は、血餅周囲の狭い管路を通る血液の流れを向上させ、纖維素溶解性酵素の該血餅への供給を増加させる。また本発明は、酵素による血餅の溶解速度を早め、溶解性酵素に対して通常は十分に暴露されない血餅へも、酵素の供給を促進することによって該血餅の溶解率を向上させる。さらに本発明の纖維素溶解性合成物は、特定の適用についての酵素の必要投与量を減少させることにより、その酵素に起因する副作用による合併症の危険を減少させる。

本発明の纖維素溶解性合成物は、血餅の溶解を促進し、凝集した血小板を解放し、別の血小板が血餅や血餅面所に凝集することを阻止することによって、直後の再血栓症の危険を減少する。直後の再血栓症の危険が少なくなることにより、本発明の纖維素溶解性合成物は、閉塞し

た障害血管の治療にバルーン血管再通術や他の侵入性処置を適用することを遅らせることを可能にする。この遅延によって、その侵入性処置の実施を、患者に最も好適な条件に合わせて選択することが可能となる。

本発明の繊維素溶解性合成物の調合に使用される溶液は次の通りであるが、これに限定されるものではない。塩水（1000ccの精製水に8.5～9.5グラムの塩化ナトリウムを含有させた塩化ナトリウム溶液）、リンゲル液、乳酸加リンゲル液、クレプスリンゲル液、および各種糖溶液である。これら溶液は、全て当業者によく知られている。しかしながら、本発明の繊維素溶解性合成物は、等浸透圧でない溶液として投与することができる。

界面活性コポリマーは、エチレン酸化物-プロピレン酸化物の凝縮生成物であって次の一般式を有するものが好ましい。



ここで、aは整数であって（ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ）で表される疎水性物質が約950～4000の分子量、好ましくは約1750～3500の分子量を有するように選択され、bは整数であって（ $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$ ）で表される親水性部分が合成物の約50～90重量%をなすように選択される。これらコポリマーは、BASF社（ニュージャージー州パーシパニー）からPluronic（登録商標）ポリオルの一般商標名で販売されている。

本発明の界面活性コポリマーは、人体によって代謝さ

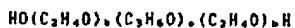
量が7700であるポリオル。

4. 約80重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子量が14,600であるポリオル。

5. 約70重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子量が12,600であるポリオル。

6. 約90重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子量が9500であるポリオル。

本発明の繊維素溶解性合成物に使用される好適なエチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーは、次の式を有するコポリマーである。



ここで、疎水性物質（ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ）の分子量は約1750であり、合成物の総分子量は約8400である。

本発明の血餅溶解性合成物におけるコポリマーの濃度は、特定の環境において必要な溶液の総量に応じて変化させ得る。また、本発明に使用されるブロックコポリマーの総量も、血栓または塞栓のサイズやタイプ、使用される特定のコポリマー、使用される特定の繊維素溶解性酵素、および患者の身長や体重に応じて変化させることができる。

このコポリマーは、悪い副作用なしに広範囲の濃度にわたって使用可能である。このコポリマーは、迅速に完全に排出される。投与されるコポリマーの90%は、3時間以内に排出される。毒性が低く人体から急速に排出されるので、このコポリマーは長期間にわたって投与することができる。

れず血液から迅速に排除される。このコポリマーの血液中における半減期は約2時間である。本発明の改良繊維素溶解性合成物中の界面活性コポリマーは、凝縮生成物中の他のいかなる成分とも共有結合しない。

このポリマーブロックは、エチレン酸化物とプロピレン酸化物とを高温および高圧において基本触媒の存在下で凝縮することにより形成される。モノマー単位が結合して各コポリマーにおけるポリマー鎖を形成するが、これらモノマー単位の数にはある程度の統計的なばらつきがある。与えられる分子量は、各調合におけるコポリマーの平均分子量の近似値である。プロピレン酸化物とエチレン酸化物とのブロックは、純粋である必要ない。全体の物理化学特性が実質的に変化しない限り、少量の他の物質が混ざっても良い。これら生成物の製造の詳細については、米国特許第2,674,619号に開示されており、この米国特許は本明細書に参照として取り入れた。

本発明の繊維素溶解性合成物の製造に使用可能なエチレン酸化物-プロピレン酸化物の凝縮生成物の例は次の通りのコポリマーであるが、これらに限定されるものではない。

1. 約80重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子量が4700であるポリオル。

2. 約50重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子量が3400であるポリオル。

3. 約70重量%のエチレン酸化物を含有し平均分子

本発明の繊維素溶解性合成物は、標準的な方法によって血液と混合して使用することもできる。しかしながら、これら溶液は、塊としてまたはゆっくりした点滴としてあるいはその両者によって血液流中に静脈注射することが好ましい。これら溶液は、一般に、実質的に定常静脈圧を維持するような方法で血液と混合される。

界面活性コポリマーの溶液と、繊維素溶解性酵素とを別個に投与することも本発明に含まれる。例えば、界面活性コポリマーの溶液と、繊維素溶解性酵素の溶液とを別個に準備し、それらを同時にまたは順次に、冠動脈の血栓閉塞の患者に投与することができる。本発明の繊維素溶解性合成物の二つの成分（コポリマー及び繊維素溶解性酵素）の同時または順次の投与は、これら成分を一緒に投与することと同一の効果を有するので、それも本発明に含まれるものである。

本発明の繊維素溶解性合成物に使用可能な繊維素溶解性酵素は次のものを含むが、これらに限定されない。ストレプトキナーゼ（Hoechst-Roussel社の登録商標名Streptase）、ウロキナーゼ（イリノイ州ノースシカゴのAbbot Laboratories社の登録商標名Abbokinase）、および組織プラスミノーゲン活性化物質（スエーデン、ウメアのBiopool AB社）である。この組織プラスミノーゲン活性化物質は、ヒトメラノーマ細胞などの真核細胞から得ることができ、組織DNAなどの遺伝子工学手法によって得ることもできる。炭つかの繊維素溶解性酵素は、水中にほとんど溶けないので、患者に投与する前に界面

活性コポリマーと乳化させる必要がある。

理想的には、酵素を有さないコポリマー溶液の塊を、本発明を投与する前に注入する。例えば、5%等張デキストロース中のコポリマーの3%溶液を2分間に注入し、コポリマーの血液濃度を約0.6mg/mlにする。さらに、コポリマーの溶液を約25mg/体重kg/時の速度で静脈内点滴してコポリマーの血液濃度を約0.6mg/mlにし、それを本発明の纖維素溶解性合成物の投与後4日またはそれ以上にわたって維持することが好ましい。この治療法は、血餅の再形成を防止することに役立つ。

本説明は主として心臓病に関連しているが、本発明の纖維素溶解性合成物は、脳、足、肺、および腎臓等など人体の他の部分における血性にも同様に適用可能である。

本発明は、血管内の血餅を溶解する方法を含み、この方法は、次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマー溶液を人体に注入する段階を備える。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。この界面活性コポリマーの血液濃度は、約0.1~6mg/mlであり、好ましくは0.5~2mg/mlである。次に、実効濃度の纖維素溶解性酵素と実効量の界面活性コポリ

物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。

また本発明は、改良された生体外組織灌漑合成物を含む。この合成物は、血液と、実効量の抗凝固物質を有する溶液と、次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなる。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。この生体外組織灌漑合成物は、コロイド溶液または塩溶液によって希釈することができる。好適な抗凝固物質はヘパリンである。本発明のこの実施例は、移植用に使用されるヒトまたは動物の臓器の寿命を延ばす上で有効である。

また本発明は、冠状動脈血球貧血症を治療する方法を含む。この方法は、纖維素溶解性合成物を含有する溶液を人体に注入する段階を備える。この合成物は、実効濃度の纖維素溶解性酵素と、実効量の次の式を有する界面活性コポリマーとからなる。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約17

マーとを有する溶液を人体に注入する。血餅が溶解された後、実効濃度の界面活性コポリマーを有する溶液を人体に注入する。コポリマーの濃度は、約0.4~2mg/ml血液に約4~144時間にわたって維持される。

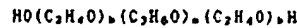
また本発明は、腫瘍から纖維素を除去する方法を含む。この方法は、血餅溶解性合成物を有する溶液を人体に注入する段階を備える。この合成物は、実効量の纖維素溶解性酵素と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなる。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。本発明の纖維素溶解性合成物は、腫瘍に直接投与することができる。

腫瘍から纖維素を除去すると、腫瘍への診断試薬の接近が容易になる。またこの方法は、腫瘍の化学療法への増進と感受性を高める。

本発明は、腫瘍の血液の流れと酸素添加とを向上させる方法を含む。この方法は、次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを含む溶液を人体に注入する段階を備える。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性

物質が約950~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。

本発明は、脾状赤血球貧血症を治療する方法を含む。この方法は、実効濃度の次の式を有する界面活性コポリマーからなる溶液を人体に注入する段階を備える。



ここで、aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される。

下記の特定の例は、特に血管中の血餅を溶解することおよび血餅の再形成を防止することに本発明を応用したものである。当業者には他の例も明らかであり、本発明は下記の特定の例に限定されるものではない。

第I例

コポリマーを血餅溶解性酵素に加えると、その酵素の血餅溶解活動に相乗作用が加えられる。これを本例で示す。

無菌の1mlツベルクリン注射器には、500~750ミクロンのガラスビーズが0.6ml詰められる(ペンシルバニア州ワリントンのPolyscience社)。この注射器の端部は、ナイテックスフィルタと片方向プラスチック止水栓で塞がれている。新鮮凍結血小板貧血クエン酸血

液は、 $1.5 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ の ^{125}I のヒト繊維素原 (ミズーリ州セントルイスの Sigma Chemical 社) でスパイクする。この放射性血漿は、普通塩水で 1:2 に希釈し、1 容積のカルシウム (アエルトリコ、アクアグの American Dade 社) と 4 容積の希釈血漿とにおいてカルシウムにより再石灰化する。

放射性繊維素原は、次のようにガラスビーズカラムに結合させる。等容積の放射性血漿を付けた再石灰化血漿を平行ビーズカラムに加え、ビーズの上に余分な血漿が出ないようにビーズの間を流す。この「ビーズ血漿」の過程および操作は、全て 37°C において行われる。このビーズ/血漿血漿は 30 分間にわたって定温放置され、次に 30 分間にわたって普通塩水で洗浄される。塩水での洗浄の最後の 5 分間中に、流量をモニタし、流量が異常に早いまたは遅いカラムは、実験から除外する。通常の平均流量は $0.2 \text{ ml}/\text{分}$ である。

本例において使用するコポリマーは、次の式を有する。 $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})_m(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{H}$

ここで、疎水性物質 ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}$) の分子量は約 1750 であり、この合成物の総分子量は約 8400 である。このコポリマーは、1 重量% コポリマーの原液として普通塩水中に作られる。

このコポリマーを有するかまたは有さず t-PA を含む血液を、次のように前記カラムに通過させる。10 ml のヘパリン添加した全血を新鮮に取り出し、 t-PA (1 ml 普通塩水中の 100 μg 、単質、ミズーリ州セン

トルイスの Sigma Chemical 社) と混合する。5.5 ml の血液は、0.5 ml の普通塩水または 0.5 ml のコポリマー原液と混合する。全血の一定分量の標品、または普通塩水で 1:3 に希釈した全血の一定分量の標品を各カラムに流す。3 ml の各血液標品を、各カラムに供給された貯蔵器に加える。全ての流れが停止するまで、1 分毎に留分を集める。各試験管内の容積を測定し、Tracor Analytic ガンマ計数器 (イリノイ州エルクグロブビレッジの TnAnalytic 社製) で放射能を計数する。収管における放射能の出現は、血漿の溶解を示す。

このデータを集めたものが第 A 表および第 1 図である。第 1 図は、カラムから解放された標品 ^{125}I 繊維素原 (カウント数/分) を時間の関数として示す。

第 A 表

血液液	時間	回収	カウント	カウント	カウント
(*)	(分)	容積	/分	/分	/分
		(容積)		(ml)	(容積)
血液、	1	0.3	2031	6770	2031
t-PA、	2	0.25	3042	12168	5073
コポリマー	3	0.3	13051	43503	18124
	4	0.2	40190	200950	58314
	5	0.25	40260	161040	98574
	6	0.25	40009	160036	138583
血液、	1	0.15	885	5900	885

t-PA	2	0.2	1330	6605	2215
	3	0.2	3681	18405	5896
	4	0.3	16333	54443	22229
	5	0.4	24932	62330	47161
	6	0.45	30545	67878	77706
	7	0.6	40365	67275	118071

血液、	2	0.8	340	425	340
コポリマー	3	0.7	351	501	691
	4	0.6	270	450	961
	5	0.6	226	377	1187
	6	0.5	204	408	1391
	7	0.4	178	445	1569

^{125}I 繊維素を含むシミュレートした血漿は、本文に説明した通りに準備される。試験標品の繊維素を溶解する能力は、カラムからの放射能の溶出割合を測定することによって決定される。コポリマーは酵素ではなく反応グループを有していないので、溶解した繊維素を溶解できない。しかしこのモデルにおける t-PA の繊維素溶解性活動を増加させる。このモデルは、冠動脈血漿の構造と流れの条件とをシミュレートするように設計されている。

第 A 表および第 1 図から分かるように、界面活性コポリマーによって放射性血漿を治療すると、放射能をわずかに放出せず、これは血漿の溶解が無いことを示す。

血漿に t-PA を投与すると、放射能の放出が起こり、これはカラム内の血漿が溶解していることを示す。しかしながら、界面活性コポリマーを溶液に添加すると、カラム内の血漿の溶解速度は著しく増加する。このように、界面活性コポリマーと t-PA との組合せは、カラム中の血漿を、 t-PA だけの場合に比べて著しく早い速度で溶解した。

他の実験において、ビーズのサイズを変更し、血漿を作るために使用される血漿の濃度を変更し、血液の希釈度または酵素またはコポリマーの濃度を変更することによってモデルを変更した。幾つかの場合において、カラム内において、全血は全く流れなかったが、コポリマーを加えた血液は、約 $0.05 \text{ ml}/\text{分}$ の流量で流れた。血液中の t-PA は、 ^{125}I 標品の放出による測定では、そのような血漿中の繊維素を全く溶解することができない。これは、血液が血漿を全く流れないからである。このような状況において、コポリマーを血液と t-PA とともに使用すると、血漿の急速な溶解を引き起こした。

第 II 例

繊維素溶解性合成物を生体外ラット心臓モデルにおいて実験した。この構成の詳細な設計は様々な所で説明されている。(Paulson 等による 1986 年の「Basic Res. Cardiol」第 81 巻、第 180~187 ページ参照。これは参照として本明細書に取り入れた。) このモデルでは、隔離された心臓の 30~90 分間の虚血期間からの

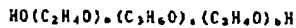
回復を測定する。この虚血期間において、栄養素の流れは通常の1%まで減少されるか、または完全に停止され、次に10分間の再灌流期間が続く。三つのパラメータを測定する、(1)心臓出力(CO)；(2)左心室収縮期血圧(LVSP)；および(3)左心室収縮(dp/dt)である。心臓回復と損傷の量との評価は、D.J. Paulson等による1984年の「Basic Res. Cardiol」第79巻、第551～561ページに検討されている。

この実験において、ヘパリン無添加の洗浄ヒト全血によって心臓を灌流した。血液の流れは30分間にわたって完全に停止させ、次に10分間にわたり洗浄ヒト全血によって再灌流を行った。このヒト全血はヘパリン無添加であるが、または第B表に示すような添加剤を加えた。本例に使用したコポリマーは次の式を有する。



ここで、疎水性物質($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。このコポリマーは、1重量%コポリマーの原液として普通水中に作られる。

この実験の結果は次の通りである。本例に使用した界面活性コポリマーの最終濃度は0.68mg/mlである。本例で使用するストレプトキナーゼは、ミズーリ州セントルイスのSigma Chemical社から入手できる。ストレプトキナーゼは、100単位/心臓の濃度において投与される。この結果は第B表に示すとおりである。

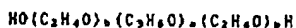


ここで、疎水性物質($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。これらウロキナーゼおよびコポリマーは、完全に混合して均一溶液を形成する。この溶液の最終容積は195mlである。

本発明の緩性溶解性合成物を、195mlの総容積を供給する能力を有する一定注入ポンプによって投与する。本発明の緩性溶解性合成物の開始量は、10分間にわたって90ml/時の速度で投与される。次に、本発明の連続注入は、12時間にわたって15ml/時の速度で行う。本発明の緩性溶解性合成物の成分は、注入ポンプの供給サイクルの最後において管内に残るであろうゆえ、0.9%塩化ナトリウムの溶液を15ml/時の速度で投与することにより、その残留溶液を管から押し出す。

第IV例

冠動脈血栓を有する患者を治療するため、75mgのウロキナーゼ(イリノイ州ノースシカゴのAbbot Laboratories社製のAbbokinase)を15.6mlの無菌水中に再構成する。このウロキナーゼ溶液に、次の式を有する15グラムのエチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーを含有する300mlの5%デキストロース溶液を加える。



第B表

心臓回復パーセント(平均値)

添加	CO	LVSP	dp/dt
全血	5	24	10
コポリマー添加	38	82	65
ストレプトキナーゼ添加	33	75	60
コポリマーおよび ストレプトキナーゼ添加	58*	88	78

*コポリマーとストレプトキナーゼとの組合せと、(a)全血虚血対照、(b)コポリマーのみ、(c)ストレプトキナーゼのみとの間の心臓出力(CO)の差は $p < 0.05$ 。学生の実験を使用して各手段間の差を決定した。... $p < 0.05$ の結果は非常に大きいと見なされた。

第B表から分かるように、コポリマーとストレプトキナーゼとの組合せは、コポリマーのみまたはストレプトキナーゼのみよりも良好に心臓を保護した。

第V例

肺血栓症を有する体重約180ポンドの患者を治療するため、500mgのウロキナーゼ(イリノイ州ノースシカゴのAbbot Laboratories社製のAbbokinase)を105mlの無菌水中に再構成する。このウロキナーゼ溶液に、次の式を有する6グラムのエチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーを含有する90mlの0.9%塩化ナトリウム溶液を加える。

ここで、疎水性物質($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。これらウロキナーゼおよびコポリマーは、完全に混合して均一溶液を形成する。次にこの溶液を5%デキストロースで希釈して500mlの最終容積を得る。

本発明の溶液を、閉塞した動脈に、4ml/分の速度で5時間までの期間にわたって注入する。本発明の緩性溶解性合成物溶液に対する応答を決定するため、周期的な血管造影を行う。

第V例

肺血栓症を有する体重約180ポンドの患者を治療するため、500mgのウロキナーゼ(イリノイ州ノースシカゴのAbbot Laboratories社製のAbbokinase)を105mlの無菌水中に再構成する。このウロキナーゼ溶液に、次の式を有する6.0グラムのエチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーを含有する90mlの0.9%塩化ナトリウム溶液を加える。



ここで、疎水性物質($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。これらウロキナーゼおよびコポリマーは、完全に混合して均一溶液を形成する。この溶液を0.9%塩化ナトリウムで希釈して195mlの最終容積を得る。

3%重量/容積のエチレン酸化物-プロピレン酸化物のコポリマーを溶解した5%等張デキストロース溶液の

137 mlを、2分間にわたって患者に投与する。これにより、コポリマーの血液濃度は約0.6 mg/mlとなる(血液は体重の8%とする)。

この後すぐに、本発明の繊維素溶解性合成物を、195 mlの輸容量を供給する能力を有する一定注入ポンプによって投与する。本発明の開始量は、10分間にわたって90 ml/時の速度で投与される。次に本発明の連続注入は、12時間にあたって15 ml/時の速度で行う。本発明の投分かは、注入ポンプの供給サイクルの最後において管内に残るであろうゆえ、3.0%コポリマーを含有する0.9%塩化ナトリウム溶液を15 ml/時の速度で投与することにより、残留溶液を管から押し出す。

血餅の溶解後、コポリマーの溶液を、静脈内点滴によって、約25 mg/kg体重/時の速度で投与し、コポリマーの血液濃度を約0.6 mg/mlに維持する。コポリマー溶液の投与は、本発明の繊維素溶解性合成物の投与後、4日間にわたって続ける。

第VI例

移植準備における生体外臓器保存のため、ヘパリン(ミズーリ州セントルイスのSigma Chemical社)の1000単位を普通(0.9%)塩化ナトリウム溶液の200 ml中に再構成し、1.36 gの本発明のコポリマーを添加し、洗浄ヒト全血を再懸濁して灌流媒質を作る。このコポリマーは次の式を有する。

合で送気する。十分なレベルの肺野を、必要に応じてベントサルの腕を同方向的に供給することによって維持する。皮膚の下準備をした後、左前開胸術を実施し、心臓を切開し、心臓を暴露する。左前下行冠動脈を同定し、分離し、その起始から1 cmをスネアで巻き付ける。一時的な左前下行冠動脈閉塞は、スネアを締め付け、それを90分間にわたって続けることで完了する。この過程の間、脈拍と血圧とを、Hewlett-Packard社の7758B型8チャンネルレコーダを使用してモニターする。動脈血圧は、18ゲージ留置カテーテルを右大動脈内に挿入してモニターし、Hewlett-Packard社の水晶変換器によって測定する。両心筋虚血の心電出力も同様にモニターする。虚血後90分における肺組織の再灌流においては、スネアを徐々に解放して充血障害を防止する。補助除酸素器を部屋に準備し、全ての必要な強心剤を準備し、左前下行冠動脈結紮による心臓細動や循環衰弱などの事態に対処する。治療剤は、再灌流に関連して次のように注入する。McCordの「J. Biol. Chem」第244巻、第6049ページ(1969年)の方法によって決定される約3000活動単位/mgを有するウシスーパーオキシド不飽和化酵素は、ミズーリ州セントルイスのSigma Chemical社から得られる。これを100 mlの普通塩水中に溶解し、灌流再開の15分前から静脈内に90分間にわたって注入する。これは、冠動脈血性の溶解中に発生する作用をシミュレートするものである。

コポリマーの溶液は、塩水中に2%重量/容積におい



ここで、疎水性物質(C_2H_4O)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。

肺野を閉じたスプレイグーダウレイラットから切除した心臓を、90分間の低流虚血後に、(a)血液とヘパリン、または(b)血液、ヘパリンおよびコポリマーによって10分間にわたり灌流した。心臓出力(CO)、左心室収縮期血圧(LVSP)、および左心室収縮(dp/dt)を決定し、通常心臓と比較しての回復を、パーセントで表した。ヘパリンを有する血液を受けた虚血動物心臓の回復は悪く、12%CO、44%LVSP、および34%dp/dtであった。血液とヘパリンとコポリマーとを与えられた心臓は優れた回復を示し、90%CO、92%LVSP、および84%dp/dtであった。ヘパリンとコポリマーのグループについては、三つのパラメータの全てが、虚血対照グループ(ヘパリンのみ)に比較して統計的に異なっていた($P < 0.01$)。各手段間の相違は、学生の実験によって決定した。

第VII例

酸素および他の因子に関連する再灌流障害から虚血心臓を保護する上で、スーパーオキシドと適切なコポリマーとの組合せが、スーパーオキシド不飽和化酵素だけよりも優れていることを実験を通して示す。

全身肺野(チオペンタールナトリウム25 mg/kg)の元で、動物に挿管し、70%酸素を12呼吸/分の割合

で灌流し、0.6 mg/mlの血液レベルを実行するだけの分量を2分間にわたり静脈内に塊として投与し、その後、約25 mg/kg/時の一定流量を投与して約0.6 mg/mlの血液レベルをその実験の残り時間にわたって維持する。

このエチレン酸化物-プロピレン酸化物コポリマーは次の一般式を有する。



ここで、疎水性物質(C_2H_4O)の分子量は約1750であり、この合成物の総分子量は約8400である。

この組合せの相乗作用は、コポリマーとスーパーオキシド不飽和化酵素との療法で治療した犬と、どちらか一方の物質によって治療したかまたは治療しなかった犬との両者の結果を比較することによって示される。

薬剤は、IVAC560注入ポンプを使用して静脈内に注入する。注入を開始してから15分後にスネアを解放し、各グループについて薬剤の総量が投与されるまで注入を続行する。胸は重層で閉じられる。肋骨を利用して気胸を排出し、自発的な呼吸が戻ったらそれを取り去る。静脈内液体(乳酸加リンゲル液)を、手術に先立つ24時間NPO期間を補償するため投与し、さらに3対1の比率で血液損失を補償する。これら動物は、次の24時間にあたって維持し注意深く様子を見る。次に各動物を手術台に戻し、全身肺野の元で前の切開を再び開く。動物はバルビツール剤を過剰に投与して犠牲にする。心臓および上行大動脈の近位4 cmを切除するが、この時、

昭和63年 9月29日

特許庁長官殿

冠動脈の起始を必ず含める。

すべてのグループについて同一の処置を施し、梗塞の危険のあるまたは実際に梗塞している心筋の領域を同定する。

この技術は、左前下行冠動脈を塩化2,3,5トリフェニルテトラゾリウムによって灌流することを含む。これにより、完全な心筋は赤く染色され、梗塞した心筋は染色されない。心筋の危険領域の境界は、冠動脈系を大動脈幹路を介してエバンスブルー着色剤で灌流することにより決定される。この危険領域は、エバンスブルーで着色されないことによって区画される。

当然ながら前記説明は、本発明の好適実施例のみに関連しており、多くの変更や改良が請求の範囲に記載されている本発明の範囲を逸脱せずに可能である。

1. 事件の表示

PC1/US87/01067

2. 発明の名称

繊維系溶解性合成物

3. 補正をする者

事件との関係 出願人

住所 アメリカ合衆国 30322 ジョージア州
アトランタ サウス オックスフォード
ロード 1380
名称 エモリ ユニバーシティ

4. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門1丁目2番3号
虎ノ門第1ビル5階
電話 東京(504)3075(代)
氏名 弁理士(6834)三好保

6. 拒絶理由通知の自付(自発)



方 式 ①

8. 補正の対象

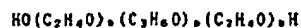
特許請求の範囲

9. 補正の内容

特許請求の範囲を別紙の通り補正する。

請求の範囲

1. 繊維系溶解性酵素と界面活性コポリマーとからなり、前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



aは整数であって(C₃H₅O)で表される疎水性物質が約950~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって(C₂H₄O)で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される、改良繊維系溶解性合成物。

2. 前記繊維系溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとプロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第1項に記載の改良繊維系溶解性合成物。

3. さらに酸素基捕捉剤を含む、請求の範囲第1項に記載の改良繊維系溶解性合成物。

4. 前記酸素基捕捉剤が、スーパーオキシド不活化酵素とマンニトールとからなるグループから選択される、請求の範囲第3項に記載の改良繊維系溶解性合成物。

5. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、

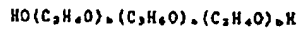


疎水性物質(C₃H₅O)の分子量が約1750であって、

前記合成物の総分子量が約8400である、請求の範囲第1項に記載の改良繊維溶解性合成物。

6. 前記繊維溶解性酵素と前記界面活性コポリマーとが溶液中にある、請求の範囲第1項に記載の改良繊維溶解性合成物。

7. 繊維溶解性合成物を含有する溶液を人体に注入する段階を備え、前記合成物が、実効量の繊維溶解性酵素を含有する溶液と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、血管内の血餅を溶解する方法。

8. 前記繊維溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとプロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第7項に記載の方法。

9. さらに酵素基捕捉剤を含む、請求の範囲第7項に記載の方法。

溶液を前記人体に注入し、

(c)次に、実効濃度の前記界面活性コポリマーを前記人体に注入する、血管内の血餅を溶解する方法。

15. 実効濃度の繊維溶解性酵素を含有する前記溶液が、さらに実効量の前記界面活性コポリマーを含有する、請求の範囲第14項に記載の方法。

16. 前記繊維溶解性酵素が、組織プラスミノゲン活性化物質とストレプトキナーゼとプロウロキナーゼとウロキナーゼとからなるグループから選択される、請求の範囲第14項に記載の方法。

17. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、



疎水性物質 $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ の分子量が約1750であって、前記合成物の総分子量が約8400である、請求の範囲第14項に記載の方法。

18. 前記各段階a, b, cにおける溶液が抗凝固物質を含む、請求の範囲第14項に記載の方法。

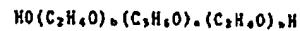
19. (a)次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを人体に注入し、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約

10. 前記酵素基捕捉剤が、スーパーオキシド不活化酵素とマンニトールとからなるグループから選択される、請求の範囲第9項に記載の方法。

11. 前記界面活性コポリマーが次の式を有し、

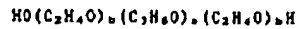


疎水性物質 $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ の分子量が約1750であって、前記合成物の総分子量が約8400である、請求の範囲第7項に記載の方法。

12. 前記繊維溶解性合成物がさらに抗凝固物質を含む、請求の範囲第7項に記載の方法。

13. 前記繊維溶解性合成物がバルーン血管再建術に関連して使用される、請求の範囲第7項に記載の方法。

14. (a)次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを人体に注入し、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択され、

(b)次に、実効濃度の繊維溶解性酵素を含有する

950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択され、

(b)次に、実効濃度の繊維溶解性酵素を含有する溶液を前記人体に注入する、血管内の血餅を溶解する方法。

20. 人体に繊維溶解性合成物を含有する溶液を注入する段階を備え、前記合成物が、実効量の繊維溶解性酵素と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であって $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、腫瘍から繊維素を除去する方法。

21. 腫瘍を有する人体に、次の式を有する実効量の界面活性コポリマーを含有する溶液を注入する段階を備え、



aは整数であって $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O})$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4

000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、腫瘍の血液の凝れと酸素添加とを向上させる方法。

22. 前記人体に化学療法剤を注入する段階をさらに備える、請求の範囲第21項に記載の方法。

23. 腫瘍を検出するための診断試薬を前記人体に注入する段階をさらに備える、請求の範囲第21項に記載の方法。

24. 前記診断試薬が、前記腫瘍に対して特異的である、放射性標識を付けたモノクロナル抗体である、請求の範囲第23項に記載の方法。

25. 繊維素溶解性合成物を含有する溶液を人体に注入する段階を備え、前記合成物が、実効濃度の繊維素溶解性酵素と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



aは整数であつて $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、経口赤血球質

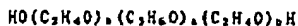
29. 動脈内腔切除術を施す段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記動脈内腔切除術後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

30. カテーテルを血管内に挿入する段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記カテーテル挿入後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

31. 血液と、

実効量の抗凝固物質を含有する溶液と、

次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなり、



aは整数であつて $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される、組織および臓器を灌流するための生体外組織灌流合成物。

32. 前記血液が全血である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

血液を治療する方法。

26. 次の式を有する実効濃度の界面活性コポリマーを含有する溶液を人体に注入する段階を備え、



aは整数であつて $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、経口赤血球質血液を治療する方法。

27. 次の式を有する実効量の界面活性コポリマーを含有する溶液を人体に注入する段階を備え、



aは整数であつて $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が前記合成物の約50~90重量%をなすように選択される、アテローム性動脈硬化に伴う血栓の再発を防止する方法。

28. バルーン血管再建術を施す段階をさらに備え、前記界面活性コポリマーが、前記バルーン血管再建術後の血管の閉塞の危険を減少させる、請求の範囲第27項に記載の方法。

33. 前記血液がコロイド状溶液で希釈される、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

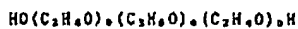
34. 前記血液が塩溶液で希釈される、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

35. 前記抗凝固物質がヘパリンである、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

36. 前記灌流される臓器が心臓である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

37. 前記灌流される臓器が腎臓である、請求の範囲第31項に記載の生体外組織灌流合成物。

38. 血液と抗凝固物質と次の式を有する実効量の界面活性コポリマーとからなる溶液で臓器を灌流する段階を備え、



aは整数であつて $(C_2H_4O)_a$ で表される疎水性物質が約950~4000の分子量、好ましくは約1750~4000の分子量を有するように選択され、bは整数であつて $(C_2H_4O)_b$ で表される親水性部分が合成物の約50~90重量%をなすように選択される、生体外臓器の保存方法。

Attachment to Form PCT/ISA/210, Part IV. I:

- III. Claims 25-26 drawn to a method of treating sickle cell disease; Class 424 subclass 94.63+
- IV. Claims 31-45 drawn to a composition and method for organ preservation; Class 424 subclass 94.63+.

Attachment

Telephone approval:

\$420 payment approved by James Johnson on 22 July 1987 for Groups II-IV; charged to Deposit Account No. 10/1213.

Reasons for holding lack of unity of invention:

The several inventions defined by Groups I-IV are drawn to recognized divergent subject matter.

Time limit for the filing a protest:

Applicant is hereby gives 15 days from the mailing date of this Search Report in which to file a protest of the holding of lack of unity of invention. In accordance with PCT Rule 40.2 applicant may protest the holding of lack of unity only with respect to the group(s) paid for.

第1頁の続き

①Int.Cl.

識別記号

庁内整理番号

A 61 K 47/00

3 0 6

優先権主張

②1987年4月29日③米国(US)④043,888

②1987年5月7日③米国(US)④045,459

⑤発明者

ダンカン アレクサンダー

アメリカ合衆国 30338 ジョージア州 ダンウツディー コーナ
ーズグローブ 1756

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.